

RECEIVED

AUG 1 1998

GROUP 1800

766.21

PATENT APPLICATION

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

#3/ Priority  
Document  
8-20-98



In re Application of: )  
TETSUYOSHI ISHIWATA et al. ) Examiner: N/Y/A 1632  
Application No.: 09/090,672 ) Group Art Unit: ~~1643~~  
Filed: June 4, 1998 )  
For: IgA NEPHROPATHY-RELATED )  
GENES : August 10, 1998

Assistant Commissioner for Patents  
Washington, D.C. 20231

CLAIM TO PRIORITY

Sir:

Applicants hereby claim priority under the  
International Convention and all rights to which they are  
entitled under 35 U.S.C. § 119 based upon the following  
Japanese Priority Application:

No. 8-325763 filed December 5, 1996


A certified copy of the priority document is  
enclosed.

The Examiner is respectfully requested to  
acknowledge receipt of the claim to priority and priority  
document.

Applicants' undersigned attorney may be reached in  
our New York office by telephone at (212) 218-2100. All

correspondence should continue to be directed to our below  
listed address.

Respectfully submitted,

  
\_\_\_\_\_  
Attorney for Applicants  
Lawrence S. Perry  
Registration No. 31,865

FITZPATRICK, CELLA, HARPER & SCINTO  
30 Rockefeller Plaza  
New York, New York 10112-3801  
Facsimile: (212) 218-2200

F508\A611358\ac

1028  
766.21

日 本 国 特 許 庁  
PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 1 9 9 6 年 1 2 月 5 日

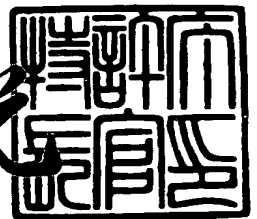
出 願 番 号  
Application Number: 平成 8 年特許願第 3 2 5 7 6 3 号

出 願 人  
Applicant (s): 協和醗酵工業株式会社

1 9 9 7 年 1 1 月 2 1 日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Patent Office

荒井 寿光



出証番号 出証特平 0 9 - 3 0 9 5 3 2 2

【書類名】 特許願

【整理番号】 H08-1391Q3

【提出日】 平成 8年12月 5日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 15/10

【発明の名称】 I g A腎症関連遺伝子

【請求項の数】 20

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都町田市森野4-17-9

    【氏名】 石渡 哲義

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都町田市森野4-17-17

    【氏名】 大島 幹子

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都世田谷区宮坂1-18-11

    【氏名】 西村 彩子

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都町田市中町3-9-9

    【氏名】 中川 智

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都大田区東嶺町39-15

    【氏名】 西 達也

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都町田市中町3-9-13

    【氏名】 久我 哲郎

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都武蔵野市吉祥寺本町2-15-32

    【氏名】 澤田 滋正

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県狭山市青柳124-140

【氏名】 武井 正美

【特許出願人】

【識別番号】 000001029

【氏名又は名称】 協和醗酵工業株式会社

【代表者】 平田 正

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 008187

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 I g A腎症関連遺伝子

【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列番号1から31に記載の塩基配列を有するI g A腎症関連遺伝子のDNA。

【請求項2】 請求項1に記載の塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA。

【請求項3】 請求項1および2に記載のDNAの塩基配列の一部を含むオリゴヌクレオチド。

【請求項4】 請求項1および2に記載のDNAと相補的な塩基配列の一部を含むオリゴヌクレオチド。

【請求項5】 請求項3および4に記載のオリゴヌクレオチドを用いてI g A腎症関連遺伝子のmRNAを検出する方法。

【請求項6】 請求項3および4に記載のオリゴヌクレオチドを含む、I g A腎症診断薬。

【請求項7】 請求項3および4に記載のオリゴヌクレオチドを用いて、I g A腎症関連遺伝子の転写および該mRNAの翻訳を抑制する方法。

【請求項8】 請求項3および4に記載のオリゴヌクレオチドを含む、I g A腎症治療薬。

【請求項9】 I g A腎症患者白血球より、ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いたI g A腎症関連遺伝子の取得方法。

【請求項10】 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質。

【請求項11】 請求項10に記載の蛋白質をコードするDNA。

【請求項12】 配列番号1に記載の塩基配列を有する請求項11に記載のDNA

。

【請求項13】 請求項12に記載の塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA。

【請求項14】 請求項11～13に記載のDNAとベクターとからなる組み換えベクター。

【請求項15】 請求項14記載の組み換えベクターを宿主細胞に導入して得られる形質転換体。

【請求項16】 請求項15記載の形質転換体を培地に培養し、培養物中に請求項10記載の蛋白質を生成蓄積させ、該培養物から蛋白質を採取することを特徴とする蛋白質の製造方法。

【請求項17】 請求項10記載の蛋白質に特異的に反応する抗体。

【請求項18】 請求項17記載の抗体を用いて該蛋白質を免疫学的に認識する方法。

【請求項19】 請求項17記載の抗体を含む、IgA腎症診断薬。

【請求項20】 請求項17記載の抗体を含む、IgA腎症治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、健常人の白血球と比較してIgA腎症患者の白血球で発現が変動するmRNAに着目し、ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いた新規遺伝子の取得およびその方法に関する。また、新規蛋白質および該蛋白質に対する抗体、該蛋白質をコードするDNA、該蛋白質および該DNAの検出方法、ならびにIgA腎症の診断および治療に関する。

【0002】

【従来技術】

IgA腎症とは、腎臓の糸球体内に血中由来と考えられるIgA免疫複合体が沈着することを特徴とする慢性糸球体腎炎である。日本では原発性腎疾患の30%以上を占め、単一の腎疾患としては最も多いものである。また、そのうちの15~30%は予後不良で腎不全へ移行する。しかしながら、IgA腎症の疾患の原因はまだ不明であるため、根本的な治療法はない。また、IgA腎症の確定診断は、腎臓の一部を生検し、メサンギウムにおけるIgA免疫複合体の沈着を免疫学的染色により確認する方法であるため、患者への負担は大きい。

【0003】

ところで、IgA腎症の患者では約50%の症例で血中IgAの値が高いことが報告

されている [ディジージズ・オブ・ザ・キドニー (Diseases of the Kidney) 第5版(1993)、ネフロン(Nephron), 29, 170(1981)]。血液中のIgAの産生はB細胞が、その産生の制御はT細胞が担っているといわれており、また、IgA患者の末梢T細胞において、サイトカインであるインターロイキン4、インターロイキン5、インターロイキン6あるいはTGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) の産生が健常人に比べて高いという報告 [クリニカル・アンド・エクスperimental・イムノロジー (Clinical & Experimental Immunology), 103, 125 (1996)、キドニー・インターナショナル (Kidney International), 46, 862 (1994)]、末梢リンパ球において、インテグリンであるVLA (very late activation)-4 およびVLA-5 がより強く活性化しているという報告 [ネフロロジー、ダイアリシス、トランスプランテーション (Nephrology, Dialysis, Transplantation), 10, 1342 (1995)] がなされている。これらのことから、IgA腎症は免疫系の異常によりIgAの産生が過剰となり、血液中のIgA免疫複合体が糸球体に沈着し、それによる補体系の活性化等が糸球体の障害に影響を及ぼしていると考えられているが、IgA腎症の原因についての報告はこれまでのところない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

IgA腎症の疾患原因の解明、治療あるいは患者の負担を軽減した診断が望まれている。本発明は、IgA腎症に関与する新規DNAおよびその取得方法を提供すること、また、IgA腎症に関与する新規蛋白質および該蛋白質に対する抗体、該蛋白質をコードするDNA、ならびにそれらを用いた治療薬および診断薬を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明は、配列番号1から31に記載の塩基配列を有するIgA腎症関連遺伝子のDNA、該DNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAに関する。本発明のDNAおよび該DNAと相補的な塩基配列の部分断片に基づくオリゴヌクレオチドを用いてIgA腎症関連遺伝子のmRNAを検出する方法、それらのオリゴヌクレオチドを含む、IgA腎症診断薬に関する。本発明のD



NAおよび該DNAと相補的な塩基配列の部分断片に基づくオリゴヌクレオチドを用いて、IgA腎症関連遺伝子の転写および該mRNAの翻訳を抑制する方法、それらのオリゴヌクレオチドを含む、IgA腎症治療薬に関する。また本発明は、IgA腎症患者白血球より、ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いたIgA腎症関連遺伝子の取得方法に関する。

【0006】

また、本発明は、配列番号32に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質、ならびに本発明の蛋白質をコードするDNA、配列番号1記載の塩基配列を有するDNA、またはこれらの塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAに関する。また本発明は、該DNAとベクターとからなる組み換えベクター、該組み換えベクターを宿主細胞に導入して得られる形質転換体、および該形質転換体を培地に培養し、培養物中に本発明の蛋白質を生成蓄積させ、該培養物から蛋白質を採取することを特徴とする製造方法に関する。また、本発明の蛋白質に特異的に反応する抗体、該抗体を用いて該蛋白質を免疫学的に認識する方法、該抗体を含むIgA腎症診断薬ならびに該抗体を含むIgA腎症治療薬に関する。

【0007】

【発明の実施の形態】

本発明では、IgA腎症患者および健常人の白血球における、mRNAの発現量の差異に注目し、新規遺伝子を取得するディファレンシャル・ディスプレイ法[FEB Sレターズ (FEBS Letters) 351, 231(1994)]を用いている。ディファレンシャル・ディスプレイ法とは、発現様式を指標に新規遺伝子をクローニングする方法である。すなわち、細胞から抽出した全RNAあるいはmRNAに対し、各種プライマーを用いてポリメラーゼ・チェーン・リアクション(PCR)反応を行い、健常人の白血球に比べIgA腎症患者の白血球で、その発現量が顕著に増加あるいは減少する新規な遺伝子のcDNA増幅断片を取得する方法である。以下にその方法について述べる。

【0008】

IgA腎症患者および健常人の白血球から全RNAを調製する方法としては、

チオシアン酸グアニジン-トリフルオロ酢酸セシウム法 [Methods in Enzymol., 154,3(1987)]、また全RNAからポリ(A)<sup>+</sup> RNAを調製する方法としては、オリゴ(dT)固定化セルロースカラム法 [モレキュラー・クローニング: ア・ラボラトリー・マニュアル (第2版)] などがあげられる。また、IgA腎症患者の白血球および健常人の白血球からmRNAを調製するキットとしては、ファースト・トラック・mRNA・アイソレーション・キット (Fast Track mRNA Isolation Kit; インビトロジェン社製)、クイック・プレップ・mRNA・ピュリフィケーション・キット (Quick Prep mRNA Purification Kit; ファルマシア社製) などがあげられる。

【0009】

続いて、IgA腎症患者の白血球および健常人の白血球から抽出したRNAから、アンカープライマーを用いてcDNAを合成し、続いて、該cDNAに対して5'末端を蛍光標識したアンカープライマーと任意プライマーとを用いてPCR反応を行う。アンカープライマーとは、チミジンを除く、アデニン、グアニンあるいはシトシンのオリゴヌクレオチドを、mRNAの3'末端ポリA配列に会合するオリゴdT配列の3'末端に付加したプライマーである。任意プライマーとは、多種類のcDNAの配列に対して増幅し、かつ一度の反応で多数のcDNA増幅断片を得ることができるオリゴヌクレオチドのことであり、オリゴヌクレオチドの長さとしては、10mer程度が好ましい。

【0010】

PCR反応後、ポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、フルオロイメージャーで蛍光を検出する。そして、IgA腎症患者および健常人の白血球由来のcDNA増幅断片の泳動パターンを比較し、発現増幅が変動しているcDNA断片をゲルから回収し、該cDNA増幅断片をベクターに組み込み、通常用いられる塩基配列解析方法、例えばSangerらのジデオキシ法 [Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 74, 5463(1977)] 等によって分析することにより、該DNAの塩基配列を決定することができる。

【0011】

DNA断片を組み込むベクターとしては、pDIRECT [ヌクレイック・アシッド

・リサーチ(Nucleic Acids Research) 18, 6069 (1990)]、pCR-Script Amp SK(+)  
[ストラタジーン社製、ストラテジー(Strategies), 5, 6264(1992)]、pT  
7Blue (ノバジーン社製)、pCR II [インビトロジェン社製、バイオテクノロジー  
(Biotechnology), 9, 657(1991)]、pCR-TRAP (ジーンハンター社製) および  
NoTA<sub>T7</sub> (5プライム→3プライム社製) などがあげられる。

【0012】

塩基配列の分析は、塩基配列自動分析装置、例えば373A・DNAシーケン  
サー(アプライド・バイオシステムズ社製)等を用いて行うことができる。

本発明のDNAとしては、配列番号1から31に示される塩基配列からなるD  
NAもしくは該DNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA  
配列などがあげられる。

【0013】

配列番号1から31に示される塩基配列と、ストリンジェントな条件下でハイ  
ブリダイズするDNAとは、該蛋白質の本来有する活性を失わない範囲内で、置  
換、欠失、挿入あるいは付加などの変異が一カ所以上導入されたDNAで、配列  
番号1から31に示される塩基配列を有するDNAまたはその断片をプローブと  
して、コロニー・ハイブリダイゼーション法あるいはブランク・ハイブリダイゼ  
ーション法[モレキュラー・クローニング: ア・ラボラトリー・マニュアル(Mol  
ecular Cloning, A laboratory manual)、第2版[サンプルック(Sambrook)、フ  
リッチ(Fritsch)、マニアチス(Maniatis)編集、コールド・スプリング・ハーバ  
ー・ラボラトリー・プレス(Cold Spring Harbor Laboratory Press)、1989  
年刊]、以下、モレキュラー・クローニング: ア・ラボラトリー・マニュアル  
第2版と記す]により得られるDNAを示す。

【0014】

本発明のDNAの塩基配列に基づくオリゴヌクレオチドを用いてIgA腎症に  
関与するmRNAを検出する方法としては、ノーザンハイブリダイゼーション法  
[Molecular Cloning, A laboratory manual Second edition, Cold Spring Har  
bor Laboratory Press(1989)]、PCR法[PCR プロトコールズ(PCR Protocols  
)、アカデミック・プレス(Academic Press) (1990)] などがあげられる。特に、

RT (Room Temperature) - PCR法は、簡便であり、IgA腎症の診断に利用することができる。具体的には、ヒトから採血し、白血球を回収し、そこから単離したRNAを、オリゴ(dT)プライマーと逆転写酵素を用いてcDNAに変換した後、検出したいmRNAに対応する一組のオリゴヌクレオチドプライマーを用いてPCR反応を行い、増幅断片を検出する方法である。

【0015】

オリゴヌクレオチドプライマーとしては、検出したいmRNAの一部の塩基配列において、5'末端側の塩基配列に相当するセンスプライマーおよび3'末端側の塩基配列に相当するアンチセンスプライマーがあげられる。ただし、mRNAにおいてウラシルに相当する塩基は、オリゴヌクレオチドプライマーにおいてチミジンとなる。

【0016】

センスプライマーおよびアンチセンスプライマーとしては、両者の融解温度( $T_m$ )および塩基数が極端に変わることのないオリゴヌクレオチドを用いるのが好ましい。塩基数としては、15~40merが好ましい。

上述のオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅させる塩基配列部分としては、mRNAのいかなる塩基配列領域でもよいが、塩基配列の長さが50bpから2kbpであり、反復配列あるいはGC(グアニン・シトシン)塩基に富む配列を含みぬ塩基配列領域が好ましい。

【0017】

また、同様にアンチセンスRNA/DNA〔化学46, 681 (1991)、バイオテクノロジー(Biotechnology) 9, 358 (1992)〕を用いて、DNAの転写もしくはmRNAの翻訳を抑制することによりIgA腎症の治療に利用することもできる。

アンチセンスRNA/DNA技術を用いて該蛋白質の生産を抑制するには、本発明の該蛋白質をコードするDNAの一部の塩基配列、好ましくは翻訳開始領域にある10~50塩基の塩基配列を基にしてオリゴヌクレオチドを設計・調製し、生体内に投与することににより可能である。合成オリゴヌクレオチドの塩基配列としては、本発明の該蛋白質をコードするDNAのアンチセンス鎖の塩基配列の一部と一致するもの、あるいは該蛋白質の活性発現を抑制する活性を失わない範囲

内で改変したものを利用できる。オリゴヌクレオチドとしてはDNA、RNAまたはその誘導体たとえばメチル体やフォスフォロチオエート体を用いることができる。

## 【0018】

前述した方法で得られたcDNA断片からDNA全長を得るには、前述したcDNA増幅断片をプローブとして、各種cDNAライブラリーよりハイブリダイゼーションによりスクリーニングして得ることができる。以下に、cDNAライブラリーの作製法について述べる。

## 【0019】

cDNAライブラリー作製法としては、モレキュラー・クローニング：ア・ラボラトリー・マニュアル（第2版）やカレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、サプPLEMENT 1～34等に記載された方法、あるいは市販のキット、例えばスーパースクリプト・プラスミド・システム・フォー・cDNA・シンセシス・アンド・プラスミド・クローニング（Super Script<sup>TM</sup> Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning、ライフテクノロジーズ社製）やザップ-cDNA・シンセシス・キット [ZAP-cDNA Synthesis Kit、ストラタジーン（Stratagene）社製] を用いる方法などがあげられる。さらに、cDNAライブラリーを市販している場合もあり、本発明における、ギブコBRL社製のヒト白血球cDNAライブラリーなどcDNAライブラリーそのものの市販品もある。

## 【0020】

cDNAライブラリーの作製の際の、細胞から抽出したmRNAを鋳型として合成したcDNAを組み込むベクターは、該cDNAを組み込めるベクターであればいかなるものでも用いることができる。例えば、ZAP Express [ストラタジーンズ(Strategies) 5, 58 (1992)]、pBluescript II SK(+) [ヌクレイック・アシッド・リサーチ(Nucleic Acids Research) 17, 9494 (1989)]、λ zap II (ストラタジーン社製)、λ gt10、λ gt11 [DNA クローニング、ア・プラクティカル・アプローチ(DNA Cloning, A Practical Approach), Vol.1, 49 (1985)]、Lambd a BlueMid (クローンテック社製)、λ ExCell、pT7T3 18U (ファルマシア社製

)、pcD2 [モレキュラー・アンド・セルラー・バイオロジー(Mol. Cell. Biol.)  
3, 280 (1983)] およびpUC18 [ジーン(Gene), 33, 103 (1985)] 等が用いられ  
る。

【0021】

ベクターにより構築されるcDNAライブラリーを導入する大腸菌としては該  
cDNAライブラリーを導入、発現および維持できるものであればいかなるもの  
でも用いることができる。たとえばXL1-Blue MRF' [ストラテジーズ(Strategies  
, 5, 81 (1992)]、C600 [ジェネティクス(Genetics), 39, 440 (1994)]  
、Y1088、Y1090 [サイエンス(Science), 222, 778 (1983)]、NM522 [ジャー  
ナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー(J. Mol. Biol.), 166, 1 (1983)]、  
K802 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー(J. Mol. Biol.), 16, 1  
18 (1966)] およびJM105 [ジーン(Gene), 38, 275 (1985)] 等が用いられる。

【0022】

また、cDNAライブラリーを作製せずに、cDNAを合成後両端にアダプタ  
ーを付加し、このアダプターの塩基配列と増幅断片の塩基配列に基づいたプライ  
マーでPCRを行う5'-RACE (rapid amplification of cDNA ends)および3'  
-RACE [プロシーディングス・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・  
サイエンス・オブ・ザ・USA(Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A), 85, 8998 (1988)] によ  
っても得ることができる。また塩基配列に基づいたPCR法、あるいはDNA合  
成機で化学合成する方法によって得ることもできる。cDNAライブラリーから  
のcDNAクローンの選択としては、アイソトープあるいは蛍光標識したプロ  
ブを用いたコロニー・ハイブリダイゼーション法あるいはブランク・ハイブリダ  
イゼーション法 [モレキュラー・クローニング: ア・ラボラトリー・マニュアル  
第2版] により選択することができる。また、プライマーを調製し、ポリ(A)  
<sup>+</sup> RNA あるいはmRNAから合成したcDNAあるいはcDNAライブラリーを  
鋳型として、ポリメラーゼ・チェーン・リアクション (PCR) 法 [モレキュラ  
ー・クローニング: ア・ラボラトリー・マニュアル (第2版)、カレント・プロ  
トコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、サプリメント1~34] によ  
りcDNAを調製することもできる。

【0023】

上記方法により選択されたcDNAクローンを、適当な制限酵素などで切断後、pBluescript KS(+) (ストラタジーン社製)等のプラスミドにクローニングし、通常用いられる塩基配列解析方法、例えばSangerらのジデオキシ法 [Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 74, 5463(1977)] 等によって分析することにより、該DNAの塩基配列を決定することができる。塩基配列の分析は、塩基配列自動分析装置、例えば373A・DNAシーケンサー (アプライド・バイオシステムズ社製) 等を用いて行うことができる。

【0024】

得られた塩基配列の新規性の確認は、GenBank、EMBLおよびDDBJなどの塩基配列データベースにより行う。

上記方法によって得られたDNAとしては、例えば配列番号1で示される塩基配列を有するDNAもしくは該DNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAがあげられる。また、該塩基配列より推定されるアミノ酸配列を有する蛋白質としては、配列番号32記載のアミノ酸を有する蛋白質が含まれる。

【0025】

新規蛋白質をコードするDNAの調製および発現は、モレキュラー・クローニング: ア・ラボラトリー・マニュアル (第2版)、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー (Current Protocols in Molecular Biology)、サプルメント1~34 (Supplement 1~34) [アウスベル(Ausubel)、ブレント(Brent)、キングストン(Kingston)、ムーア(Moore)、セイドマン(Seidman)、スミス(Smith)、スツール(Struhl)編集、グリーン・パブリッシング・アソシエーツ・アンド・ウェイリーインターサイエンス (Green Publishing Associates and Wiley-Interscience) 発行、1987-1996年版、以下、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、サプルメント1~34と記す] 等に記載された方法によって、行なうことができる。

【0026】

すなわち、前述した方法により得られた全長DNAを適当なベクターのプロモ

ーター下流に挿入した組換え体ベクターを造成し、それを宿主細胞に導入することにより、本発明の蛋白質を発現する形質転換体を得ることができる。

【0027】

宿主としては、細菌、酵母、動物細胞、昆虫細胞など、目的とする遺伝子を発現できるものであれば、いずれでもよい。細菌としては、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*)、バチルス・ズブチリス (*Bacillus subtilis*)、バチルス・アミロリクエファシネス (*Bacillus amyloliquefaciens*)、ブレビバクテリウム・フラバム (*Brevibacterium flavum*)、ブレビバクテリウム・ラクトファーメンタム (*Brevibacterium lactofermentum*)、コリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*)、マイクロバクテリウム・アンモニアフィラム (*Microbacterium ammoniaphilum*) 等のエシェリヒア属、セラチア属、コリネバクテリウム属、ブレビバクテリウム属、シュードモナス属、バチルス属等の微生物が例示される。酵母としては、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、シゾサッカロミセス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*)、クリュイベロミセス・ラクチス (*Kluyveromyces lactis*)、トリコスポロン・プルランス (*Trichosporon pullulans*)、シュワニオミセス・アルビウス (*Schwanniomyces alluvius*) 等が例示される。動物細胞としては、ヒトの細胞であるナマルバ細胞、サル細胞であるCOS細胞、チャイニーズ・ハムスターの細胞であるCHO細胞等が例示される。昆虫細胞としては、*Spodoptera frugiperda*の卵母細胞であるSf9、Sf21 [バキュロウイルス・イクスプレッション・ベクターズ、ア・ラボラトリー・マニュアル(*Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual*)、オレリー(Oreilly)、ミラー(Miller)、ルーコウ(Luckow)著、ダブリュー・エイチ・フリーマン・アンド・カンパニー(W.H. Freeman and Company)、ニューヨーク(New York)、1992年版(以下、バキュロウイルス・イクスプレッション・ベクターズ、ア・ラボラトリー・マニュアルと記す)]、*Trichoplusia ni*の卵細胞であり、ファーマンジェン(Pharmingen)社からHigh5として市販されているTn5等が例示される。

【0028】

本発明のDNAを導入するベクターとしては、該DNAを組み込むことができ



、宿主細胞で発現できるものであればいかなるベクターでも用いることができる

。

細菌、例えばエシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) を宿主細胞として用いる場合には、プロモーター、リボソーム結合配列、本発明のDNA、転写終結配列、場合によってはプロモーターの制御配列より構成されているのが好ましい

。

#### 【0029】

発現ベクターとしては、例えば、pKYP10 (特開昭58-110600)、pLSA1 [アグリカルチュラル・アンド・バイオロジカル・ケミストリー (Agric. Bio. Chem.), 53, 277, (1989)]、pGEL1 [Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 82, 4306, (1985)] 等が用いられる。

プロモーターとしては、大腸菌等の宿主細胞中で発現できるものであればいずれを用いてもよい。例えば、trp プロモーター (Ptrp)、lac プロモーター (Plac)、T7lac プロモーター、PLプロモーター、PRプロモーターなどの、大腸菌やファージ等に由来するプロモーターが用いられる。Ptrp を2つ直列させたプロモーター (Ptrp × 2)、tac プロモーターのように人為的に設計改変されたプロモーター等を用いてもよい。

#### 【0030】

リボソーム結合配列としては、シャインーダルガノ (Shine-Dalgarno) 配列 (以下、SD配列と略記する) と開始コドンの間を適当な距離 (例えば、6~18塩基) に調節して用いることが好ましい。

本発明の組換えベクターにおいては、本発明のDNAの塩基配列を宿主細胞での発現に最適なコドンとなるように、必要に応じて塩基を置換して用いることが好ましい。

#### 【0031】

本発明の組換えベクターにおいては、本発明のDNAの発現には転写終結配列は必ずしも必要ではないが、好適には構造遺伝子の直下に転写終結配列を配置することが好ましい。

細菌への組換えベクターの導入方法としては、細菌にDNAを導入する方法で

あれば、例えば、カルシウムイオンを用いる方法 [Proc. Natl. Acad. Sci., US A, 69, 2110-2114 (1972)]、プロトプラスト法 (特開昭63-2483942) 等、いずれの方法も用いられる。

【0032】

酵母を宿主細胞として用いる場合には、発現ベクターとして、例えば、YEp 13 (ATCC37115)、YEp 24 (ATCC37051)、Y Cp 50 (ATCC37419) 等が用いられる。

プロモーターとしては、酵母中で発現できるものであればいずれのものを用いてもよいが、例えば、ヘキソースキナーゼ等の解糖系の遺伝子のプロモーター、gal 1 プロモーター、gal 10プロモーター、ヒートショック蛋白質プロモーター、MF $\alpha$ 1 プロモーター、CUP 1 プロモーター等があげられる。

【0033】

酵母への組換えベクターの導入方法としては、酵母にDNAを導入する方法であれば、例えば、エレクトロポレーション法 [Methods. Enzymol., 194, 182-187 (1990)]、スフェロプラスト法 [Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 84, 1929-1933 (1978)]、酢酸リチウム法 [J. Bacteriol., 153, 163-168 (1983)] 等、いずれの方法も用いられる。

【0034】

動物細胞を宿主細胞として用いる場合には、発現ベクターとして、例えば、p AGE 107 [特開平3-22979 ; サイトテクノロジー (Cytotechnology), 3, 133, (1990)]、p AS 3-3 (特開平2-227075)、p AMoERC 3 Sc, p c DM 8 [ネイチャー (Nature), 329, 840, (1987)]、p c DNA I / Amp、p c DNA I (いずれもフナコシ社製) 等が用いられる。

【0035】

プロモーターとしては、動物細胞中で発現できるものであればいかなるものを用いてもよいが、例えば、サイトメガロウイルス (CMV) のIE(immediate early) 遺伝子のプロモーター、SV40あるいはメタロチオネインのプロモーター等があげられる。また、ヒトCMVのIE遺伝子のエンハンサーをプロモーターとともに用いてもよい。

【0036】

動物細胞への組換えベクターの導入方法としては、動物細胞にDNAを導入する方法であれば、例えば、エレクトロポレーション法 [Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、リン酸カルシウム法 (特開平2-227075)、リポフェクション法 [Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 84, 7413 (1987)] 等、いずれの方法も用いられる。

昆虫細胞を宿主細胞として用いる場合には、例えばカレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、サプルメント1-34、バキュロウイルス・イクスプレッション・ベクターズ、ア・ラボラトリー・マニュアル等に記載された方法によって、タンパク質を発現することができる。すなわち、以下に述べる組換え遺伝子導入ベクターおよびバキュロウイルスを昆虫細胞に共導入して昆虫細胞培養上清中に組換えウイルスを得たのち、さらに組換えウイルスを昆虫細胞に感染させ、タンパク質発現昆虫細胞を取得する。

【0037】

遺伝子導入ベクターとしては、例えば、pVL1392、pVL1393、pBlueBacIII (ともにインビトロジェン社製) 等が用いられる。

バキュロウイルスとしては、例えば、夜盗蛾科昆虫に感染するウイルスであるアウトグラフィ・カリフォルニカ・ヌクレアー・ポリヘドロシス・ウイルス (Autographa californica nuclear polyhedrosis virus) などが用いられる。

【0038】

組換えウイルスを調製するための、昆虫細胞への上記組換え遺伝子導入ベクターと上記バキュロウイルスの共導入方法としては、例えば、リン酸カルシウム法 (特開平2-227075)、リポフェクション法 [Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 84, 7413 (1987)] 等が用いられる。

遺伝子の発現方法としては、直接発現以外に、分泌生産、融合タンパク質発現等が開発されており、いずれの方法も用いることができる。例えば、J. Sambrook et al. (モレキュラー・クローニング 第2版) に記載されている方法に準じて行うことができる。

【0039】

酵母、動物細胞または昆虫細胞により発現させた場合には、エキソあるいはエ

ンドグリコシダーゼによる糖あるいは糖鎖が付加された蛋白質を得ることができる。

以上のようにして得られる形質転換体を培地に培養し、培養物中に本発明の蛋白質を生成蓄積させ、該培養物から採取することにより、本発明の蛋白質を製造することができる。

【0040】

本発明の形質転換体を培地に培養する方法は、宿主細胞の培養に用いられる通常の方法に従って行われる。

大腸菌あるいは酵母等の微生物を宿主細胞として得られた形質転換体を培養する培地としては、微生物が資化し得る炭素源、窒素源、無機塩類等を含出し、形質転換体の培養を効率的に行える培地であれば天然培地、合成培地のいずれを用いてもよい。

【0041】

炭素源としては、グルコース、フラクトース、スクロース、糖蜜、デンプン、デンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、エタノール、プロパノールなどのアルコール類が用いられる。

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、りん酸アンモニウム等の無機酸もしくは有機酸のアンモニウム塩またはその他の含窒素化合物の他、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンスチープリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕および大豆粕加水分解物、各種発酵菌体またはその消化物等が用いられる。

【0042】

無機物としては、りん酸第一カリウム、りん酸第二カリウム、りん酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等が用いられる。

培養は、通常振盪培養または深部通気攪拌培養などの好氣的条件下、15～40℃で16～96時間行う。培養期間中、pHは3.0～9.0に保持する。pHの調整は、無機または有機の酸、アルカリ溶液、尿素、炭酸カルシウム、アンモニアなどを用いて行う。

【0043】

培養中は必要に応じて、アンピシリンやテトラサイクリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときには、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、lac プロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG) 等を、trp プロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはインドールアクリル酸 (IAA) 等を培地に添加してもよい。

動物細胞を宿主細胞として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されているRPMI 1640培地、EagleのMEM培地またはこれら培地に牛胎児血清等を添加した培地等が用いられる。培養は、通常5%CO<sub>2</sub>存在下、35～37℃で3～7日間行い、培養中は必要に応じて、カナマイシン、ペニシリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

【0044】

昆虫細胞を宿主細胞として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されているTNM-FH培地 [ファーミンジェン (Pharmingen) 社製]、Sf900I ISFM [ライフテクノロジーズ (Life Technologies) 社製]、ExCell400、ExCell405 [いずれもJRH バイオサイエンス (JRH Biosciences) 社製] 等が用いられる。培養は、25～30℃で1～4日間行い、培養中は必要に応じて、ゲンタマイシン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

【0045】

本発明の蛋白質が、細胞内に溶解状態で発現した場合または細胞内に不溶体を形成した場合には、培養終了後、細胞を遠心分離し、水系緩衝液にけん濁後、超音波法、フレンチプレス法などにより細胞を破碎し、その遠心分離上清に該蛋白質を回収する。

さらに、細胞内に不溶体を形成した場合には、不溶体をタンパク質変性剤で可溶化後、タンパク質変性剤を含まないあるいはタンパク質変性剤の濃度がタンパク質が変性しない程度に希薄な溶液に希釈、或いは透析し、タンパク質の立体構

造を形成せしめることができる。

【0046】

本発明の蛋白質あるいはその糖修飾体等の誘導体が細胞外に分泌された場合には、培養上清に該蛋白質あるいはその糖鎖付加体等の誘導体を回収することができる。単離精製については、溶媒抽出、有機溶媒による分別沈殿、塩析、透析、遠心分離、限外ろ過、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、結晶化、電気泳動などの分離操作を単独あるいは組み合わせて行うことができる。

【0047】

また、本発明の蛋白質は配列番号32記載のアミノ酸配列に基づいた、化学合成法によっても製造することができる。

また、本発明の蛋白質、あるいは配列番号32記載のアミノ酸配列に基づいて化学合成した本発明の蛋白質の一部であるペプチドを抗原として免疫することにより抗体を製造することができる。すなわち免疫した動物の脾細胞とマウスのミエローマ細胞とを融合させてハイブリドーマを作製し、このハイブリドーマを培養するか、動物に投与して該動物を腹水癌化させ、該培養液または腹水を採取することにより本発明の蛋白質に対するモノクローナル抗体を製造することができる。また、免疫した動物の免疫血清を採取することにより本発明の蛋白質に対するポリクローナル抗体を製造することができる。これらの抗体はIgA腎症の診断や治療に利用することができる。

【0048】

以下、本発明の実施例を示す。

【0049】

【実施例】

実施例1 IgA腎症患者および健常人の白血球のディファレンシャル・ディスペレイ

(1) IgA腎症患者および健常人の白血球からの全RNAの取得

IgA腎症の患者5名および健常人5名各々から20ml採血し、1000単位／

m l ヘパリンナトリウム溶液（清水製薬社製）500  $\mu$  l を添加して凝固を抑制後、遠心チューブに移し、室温で3,300rpm、15分遠心後、白血球画分として中間層のバフィーコートを用いた遠心チューブに移した。AGPC法〔実験医学9, 1937, (1991)〕またはRNA回収用キットRNAeasy（QIAGEN社）で全RNAを取得した。

【0050】

(2) IgA腎症患者および健常人の白血球全RNAを用いた蛍光ディファレンシャル・ディスプレイ

それぞれの全RNA2.5  $\mu$  gについて蒸留水を全体が9  $\mu$  lになるように添加し、5'末端をフルオレセインイソチオシアネート（以下、FITCと称す）で蛍光標識したアンカープライマー（サワディー社製 50  $\mu$  M）1  $\mu$  lを加えて70℃で5分間加熱後、すぐ氷冷した。蛍光標識アンカープライマーとしては以下に示す3種類の配列（FAH : 5'-FITC-GT<sub>15</sub>A-3'、FGH : 5'-FITC-GT<sub>15</sub>G-3'、FCH : 5'-FITC-GT<sub>15</sub>C-3'）のうちの1種類ずつ反応に用いるので、1サンプルの全RNAについて計3組の反応を行った。5×逆転写酵素反応用緩衝液〔250mM トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）-HCl（pH8.3）、375mM KCl、15mM MgCl<sub>2</sub>〕4  $\mu$  l、100mMジチオスレイトール（DTT）2  $\mu$  l、10mM dNTP（dATP、dGTP、dTTPおよびdCTP）1  $\mu$  l、蒸留水1  $\mu$  l、逆転写酵素SUPE RSCRIPT II RNase H<sup>-</sup> Reverse Transcriptase（BRL社製）1  $\mu$  l（200単位）を添加して混合し、室温で10分間静置後、42℃で50分間反応させてcDNAを合成し、90℃5分間加熱して反応を停止させた。この反応液にTE緩衝液〔10mM Tris-HCl（pH8.0）、1mMエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（EDTA）（pH8.0）〕40  $\mu$  lを添加した。

【0051】

続いて、合成した各々のcDNA1  $\mu$  lに、蒸留水14.7  $\mu$  l、10×PCR用緩衝液〔100mM Tris-HCl（pH8.8）、500mM KCl、15mM MgCl<sub>2</sub>、1%トライトンX-100〕2  $\mu$  l、2.5mM dNTP 0.8  $\mu$  l、50  $\mu$  M蛍光標識アンカープライマー（FAH、FGH、FCHのうちcDNA合成時に用いたのと同じ種類のもの）0.3  $\mu$  l、10  $\mu$  M任意プライマー（オペロン社製）1  $\mu$  l、DNAポリメラーゼGene Taq（ニッポンジーン社製、

5単位/ $\mu$ l) 0.2  $\mu$ lを添加し、サーマルサイクラーにセットした。94℃で3分間、40℃で5分間、72℃で5分間反応させた後、95℃で15秒間、40℃で2分間、72℃で1分間からなる工程を1サイクルとして27サイクル反応を行い、最後に72℃で5分間反応させてPCRを行った。蛍光標識アンカープライマーとしては前述した3種類のうちから1種類、任意プライマーとしては、オペロン社製のOPD-1 ~20、OPE-1 ~20およびOPV-1 ~20の60種類のうちから1種類を組み合わせ、合計180組、さらに蛍光標識アンカープライマーFGHと任意プライマーOPB-2 (オペロン社製) の反応も行うため、1つの全RNAについて合計で181組の反応を行っている。

【0052】

各々のPCR反応液4  $\mu$ lに電気泳動サンプル用溶液 (95%ホルムアミド、0.1%キシレンシアノール、0.1%ブロムフェノールブルー) 3  $\mu$ lを添加し、95℃で2分間加熱後すぐ氷冷し、6%アクリルアミドゲル、1500V、2.5時間で電気泳動を行った。電気泳動用緩衝液としては89mM Tris、89mMホウ酸、2mM EDTAを用いた。フルオロイメージャー (モレキュラー・ダイナミックス社製) を用いて電気泳動後のゲルの蛍光を測定することにより、PCRで増幅した断片を検出し、比較した。健常人5例に比較して、IgA腎症患者の白血球5例で共通して顕著に増加あるいは減少したバンドを記録した。

【0053】

再度、別のIgA腎症患者3例と健常人3例から全く同様に全RNAを取得し、同様にディファレンシャル・ディスプレイを行い、2度のディファレンシャル・ディスプレイでともに増加あるいは減少がみられた197バンドをゲルから切り出した。

【0054】

切り出したゲルの約1/4に蒸留水38  $\mu$ l、10×PCR用緩衝液5  $\mu$ l、2.5mM dNTP 4  $\mu$ l、アンカープライマー (蛍光標識なし: サワディー社製 34  $\mu$ M) 0.6  $\mu$ l、10  $\mu$ M任意プライマー2  $\mu$ l、DNAポリメラーゼGene Taq 0.5  $\mu$ lを添加し、94℃で3分間加熱後、95℃で15秒間、40℃で2分間、72℃で1分間からなる工程を1サイクルとして30サイクル反応を行い、最後に72℃で5分間反応させてP



CRを行った。アンカープライマーおよび任意プライマーの組み合わせについては、最初に行ったディファレンシャル・ディスプレイ法のものと同様のものを用いた。反応後の液をフェノールクロロホルム（1：1）抽出し、さらにクロロホルム-イソアミルアルコール（24：1）抽出後、エタノール沈殿をした。これを精製するため1.5%低融点アガロースゲル〔シーブランクGTG（SEA PLAQUE GTG：FMC バイオプロダクツ社製）〕で電気泳動してエチジウムブロマイド染色をし、増幅断片を切り出した。これを65℃で15分間加熱してアガロースを融解させ、フェノールクロロホルム抽出し、さらにクロロホルム-イソアミルアルコール抽出後エタノール沈殿をし、10 $\mu$ l のTE緩衝液に溶解させた。

#### 【0055】

増幅断片1 $\mu$ lとPCR断片クローニング用ベクターpT7BlueT-Vector（ノバジェン社製）1 $\mu$ lを混合し、DNAライゲーションキット ver.1（宝酒造社製）を用いて、キットの指示に従い、プラスミドに増幅断片を組み込んだ。大腸菌DH5 $\alpha$ （ギブコBRL社製）を形質転換し、アンピシリン耐性株を得た。該形質転換株コロニーを蒸留水20 $\mu$ lに懸濁し、10 $\times$ PCR用緩衝液2.5 $\mu$ l、2.5mM dNTP 2 $\mu$ l、34 $\mu$ Mアンカープライマー 0.3 $\mu$ l、10 $\mu$ M 任意プライマー1 $\mu$ l、DNAポリメラーゼGene Taq 0.5 $\mu$ lを添加し、増幅断片の再増幅と同じ条件でPCRを行って電気泳動をし、最初のディファレンシャル・ディスプレイ時と同じ長さの断片が増幅することから、該プラスミドに増幅断片が組み込まれたことを確認した。

#### 【0056】

増幅断片の塩基配列はDNAシーケンサー（パーキンエルマー社製）を用いて決定した。塩基配列決定に用いた試薬および方法についてはパーキンエルマー社のダイプライマーサイクルシーケンシング（Dye primer cycle sequencing）キットを使用し、キットの指示に従った。ここで得られた塩基配列中にある制限酵素部位で、もとのディファレンシャル・ディスプレイ時の反応物を切断して電気泳動し、切り出した増幅断片に相当するバンドが確かに切断されて泳動位置が変化することを確認した。得られた塩基配列を塩基配列データベースGenBankと比較し、一致する塩基配列がデータベース中の既存の塩基配列にはないもの、データベースの塩基配列の中でexpressed sequence tagとのみ一致するものを6

6クローン選択した。

【0057】

実施例2 RT-PCRによるmRNAの発現の特異性の検出

実施例1で得られたIgA腎症患者5例および健常者5例の白血球からの全RNA 2  $\mu$ gに対して一本鎖cDNA合成キットSuperscript preamplification system (BRL社製)を用いて、キットに付属のオリゴdTプライマーにより一本鎖cDNAを合成した。具体的試薬および方法は、キットに付属のプロトコールに従った。反応後の溶液21  $\mu$ lに蒸留水399  $\mu$ lを添加して全体を420  $\mu$ lにし、そのうちの10  $\mu$ lを用いて、RT-PCRにより各増幅断片に対応するmRNAの発現量を検出した。すなわち、白血球一本鎖cDNA 10  $\mu$ lに蒸留水15.8  $\mu$ l、10 $\times$ PCR用緩衝液4  $\mu$ l、2.5mM dNTP 3.2  $\mu$ l、DMSO 2  $\mu$ l、10  $\mu$ M 遺伝子特異的5'末端側センスプライマー2  $\mu$ l、10  $\mu$ M 遺伝子特異的3'側アンチセンスプライマー2  $\mu$ l、1単位/ $\mu$ lに希釈したDNAポリメラーゼGene Taq 2  $\mu$ lを添加し、97 $^{\circ}$ C 5分間加熱し、氷中で5分間冷却した後、94 $^{\circ}$ Cで30秒間、65 $^{\circ}$ Cで1分間、72 $^{\circ}$ Cで2分間からなる工程を1サイクルとして24~35サイクルのPCR反応を行った。2%アガロースゲル電気泳動後、0.01%サイバーグリーン(宝酒造社製)で染色し、増幅した断片の量をフルオロイメジャーで定量し、mRNAの相対発現量とした。

【0058】

mRNAの量を校正するために、ハウスキーピング遺伝子であるグリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ(G3PDH)遺伝子について特異的プライマー(5'-CCCATCACCATCTTCCAGGAGC-3'、5'-TTCACCACCTTCTTGATGTCATCATA-3')同様の反応を行い、各遺伝子のmRNAの発現量をG3PDH mRNAの発現量に対する比で校正した後、IgA腎症患者5例の平均値と健常者5例の平均値を比較し、その値に差のある遺伝子31クローンについてIgA腎症患者で発現量が変化している遺伝子として選択した。表1-1および表1-2に、選択された遺伝子についてまとめた。

【0059】

【表1】

表1-1

配列表 の番号	遺伝子	増幅プライ マー <sup>1)</sup>	bp <sup>2)</sup>	発現 変動 <sup>3)</sup>	RT-PCR プラ イマー <sup>4)</sup>	RT-PCR cycle 数
1	INP377-A	FGH/OPD-1	256	5.0	55, 56	28
2	INM063-7	FCH/OPB-2	155	12.5	33, 34	28
3	INP303-A	FAH/OPD-5	305	9.9	35, 36	28
4	INM315-10	FAH/OPD-9	278	2.8	37, 38	35
5	INP319-3	FAH/OPD-10	135	14.4	39, 40	28
6	INP324-A	FAH/OPD-12	197	19.9	41, 42	28
7	INP332-A	FAH/OPD-16	137	16.6	43, 44	28
8	INM335-3	FAH/OPD-17	274	4.2	45, 46	28
9	INM336-A	FAH/OPD-17	171	0.14	47, 48	28
10	INM351-10	FCH/OPD-4	161	1.8	49, 50	28
11	INP356-4	FCH/OPD-7	323	18.5	51, 52	35
12	INP364-A	FCH/OPD-12	138	3.8	53, 54	28
13	INP379-A	FGH/OPD-2	244	8.6	57, 58	35
14	INP380-A	FGH/OPD-2	135	15.7	59, 60	35
15	INP401-A	FGH/OPD-20	258	16.7	61, 62	24
16	INP403-A	FAH/OPE-3	219	2.3	63, 64	28
17	INP407-A	FAH/OPE-5	191	9.1	65, 66	28
18	INM408-A	FAH/OPE-5	148	0.65	67, 68	28
19	INP410-5	FAH/OPE-6	306	2.0	69, 70	28
20	INM419-14	FAH/OPE-11	357	0.064	71, 72	35

【0060】

【表 2】

表1-2

21	INP429-A	FGH/OPE-7	219	2.4	73, 74	28
22	INP431-A	FGH/OPE-8	251	13.1	75, 76	24
23	INP438-A	FGH/OPE-11	233	5.4	77, 78	24
24	INP444-A	FGH/OPE-15	176	3.3	79, 80	24
25	INP451-2	FCH/OPE-4	241	14.0	81, 82	32
26	INP458-A	FCH/OPE-11	217	9.2	83, 84	28
27	INP463-A	FCH/OPE-19	232	18.2	85, 86	35
28	INP470-A	FCH/OPV-4	228	5.8	87, 88	28
29	INP482-A	FCH/OPV-10	298	9.9	89, 90	28
30	INP485-6	FCH/OPV-17	291	8.5	91, 92	28
31	GTINP332A-21 <sup>5)</sup>	-	869	4.6	93, 94	24

- 1) デフェレンシャル・ディスプレイ時に用いたアンカープライマーと任意プライマーの組み合わせを示した。
- 2) GTINP332A-21 以外はデフェレンシャル・ディスプレイ時の増幅断片の長さを示した。
- 3) 発現変動は Ig A 腎症の患者 5 例の mRNA の発現量の平均値 / 健常人 5 例の mRNA の発現量の平均値の値を示した。
- 4) RT-PCR のプライマーは配列表の番号を示した。
- 5) GTINP332A-21 は、デフェレンシャル・ディスプレイでその増幅断片が得られた遺伝子ではなく、実施例 3 と同様にして、INP332-A の全長の cDNA クローンをヒト白血球 cDNA ライブラリーから取得を試みた際に、形質転換株から得られた cDNA クローンである。その cDNA の塩基配列の一部を実施例 4 と同様にして決定したところ INP332-A の塩基配列とは異なる新規遺伝子の cDNA クローンであり、その塩基配列に基づいて実施例 2 で行った RT-PCR の結果は、Ig A 腎症の患者白血球で健常人と比較して mRNA の発現が上昇していることがわかったため、この表にいった。

【0061】

これらの遺伝子についてのプライマーと、検体白血球の mRNA 由来 cDNA とを、RT-PCR 法により反応させて、遺伝子増幅を観察することで、Ig A 腎症の診断が可能となる。

【0062】

実施例 3 INP377-A cDNA のクローン化

(1) INP377-A cDNA クローンの単離

ベクターにpCMV-SPORT (ギブコBRL社) を用いたヒト白血球cDNAライブラリー (ギブコBRL社製) から、ジーントラッパーcDNAポジティブセレクションシステム (GENE TRAPPER cDNA Positive Selection System ギブコBRL社製) を用いて、INP377-A cDNAクローンを取得した。すなわち、cDNAライブラリーをGene II 蛋白とエクソヌクレアーゼIIIを用いて、一本鎖にした後、INP377-A遺伝子と対応するピオチン化した相補的なオリゴヌクレオチド (実施例2で用いた5'側センスプライマーを用いた) をプローブとしてハイブリダイズさせ、さらにストレプトアビジン付加したマグネティックビーズでプローブを結合させて単離させた。ハイブリダイズしていた一本鎖cDNAクローンをプローブからはずした後、DNAポリメラーゼによって二本鎖にして大腸菌を形質転換することにより、INP377-A

cDNAクローンをアンピシリン耐性株として出現させた。具体的試薬および方法はキットに付加するプロトコールにしたがった。それぞれの形質転換株コロニーを蒸留水18 $\mu$ lに懸濁し、10 $\times$ PCR用緩衝液2.5 $\mu$ l、2.5mM dNTP 2 $\mu$ l、10 $\mu$ M 遺伝子特異的5'側センスプライマー1 $\mu$ l、10 $\mu$ M 遺伝子特異的3'側アンチセンスプライマー1 $\mu$ l、DNAポリメラーゼGene Taq 0.5 $\mu$ lを添加し、RT-PCRと同じ条件でPCRを行って電気泳動をし、プライマーの位置から推定される約200bpのINP377-A cDNA断片が増幅する形質転換株をINP377-A cDNAクローンとして単離した。

#### 【0063】

このクローンから公知の方法 (モレキュラー・クローニング: ア・ラボラトリ・マニュアル 第2版) に従ってプラスミドDNAを単離し、このプラスミドをpGTINP377A-46Cと名付けた。またプラスミドDNAを制限酵素Sal IおよびNot I (ともに宝酒造社製) で消化後、アガロースゲル電気泳動を行ったところ、cDNAのサイズは約3 kbであった。

#### 【0064】

##### (2) INP377-A cDNA の塩基配列の決定

pGTINP377A-46C中のINP377-A cDNA の塩基配列をパーキンエルマー社の377DNAシーケンサーを用いて決定した。塩基配列決定のための具体的試薬および方法はパーキンエルマー社のダイブライマーサイクルシーケンシングFSレディーリ

アクション(Dye primer cycle sequencing FS Ready Reaction)キットを使用し、キットの指示に従った。得られた塩基配列を配列番号1に示した。この塩基配列には143アミノ酸からなるオープンリーディングフレーム(ORF)が存在した。377-10のcDNAの塩基配列をデータベースと比較したところ、N末の137アミノ酸に相当する部分は、ショウジョウバエのガン抑制遺伝子Sxlと相同性をもつヒトの遺伝子LUCA15のN末137アミノ酸に相当する部分と一致するが、その後、全く相同性のない塩基配列が続き、ディファレンシャル・ディスプレイで得られた配列は、この全く相同性のない塩基配列中に存在することがわかった。

【0065】

【発明の効果】

本発明により得られる新規遺伝子を用いることによりIgA腎症の治療や診断が可能である。

【0066】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：2660

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```

CCCACGCGTC CGGTTGGAGG TTCTGGGGCG CAGAACCGCT ACTGCTGCTT CGGTCTCTCC   60
TTGGGAAAAA ATAAATTTG AACCTTTTGG AGCTGTGTGC TAAATCTTCA GTGGGACA   118
ATG GGT TCA GAC AAA AGA GTG AGT AGA ACA GAG CGT AGT GGA AGA TAC   166
Met Gly Ser Asp Lys Arg Val Ser Arg Thr Glu Arg Ser Gly Arg Tyr
  1           5           10           15
GGT TCC ATC ATA GAC AGG GAT GAC CGT GAT GAG CGT GAA TCC CGA AGC   214
Gly Ser Ile Ile Asp Arg Asp Asp Arg Asp Glu Arg Glu Ser Arg Ser
          20           25           30
AGG CGG AGG GAC TCA GAT TAC AAA AGA TCT AGT GAT GAT CGG AGG GGT   262
Arg Arg Arg Asp Ser Asp Tyr Lys Arg Ser Ser Asp Asp Arg Arg Gly
          35           40           45
GAT AGA TAT GAT GAC TAC CGA GAC TAT GAC AGT CCA GAG AGA GAG CGT   310
Asp Arg Tyr Asp Asp Tyr Arg Asp Tyr Asp Ser Pro Glu Arg Glu Arg
          50           55           60
GAA AGA AGG AAC AGT GAC CGA TCC GAA GAT GGC TAC CAT TCA GAT GGT   358
Glu Arg Arg Asn Ser Asp Arg Ser Glu Asp Gly Tyr His Ser Asp Gly
        65           70           75           80

```

GAC TAT GGT GAG CAC GAC TAT AGG CAT GAC ATC AGT GAC GAG AGG GAG 406  
 Asp Tyr Gly Glu His Asp Tyr Arg His Asp Ile Ser Asp Glu Arg Glu  
 85 90 95  
 AGC AAG ACC ATC ATG CTG CGC GGC CTT CCC ATC ACC ATC ACA GAG AGC 454  
 Ser Lys Thr Ile Met Leu Arg Gly Leu Pro Ile Thr Ile Thr Glu Ser  
 100 105 110  
 GAT ATT CGA GAA ATG ATG GAG TCC TTC GAA GGC CCT CAG CCT GCG GAT 502  
 Asp Ile Arg Glu Met Met Glu Ser Phe Glu Gly Pro Gln Pro Ala Asp  
 115 120 125  
 GTG AGG CTG ATG AAG AGG AAA ACA GGT GAG AGC TTG CTT AGT TCC 547  
 Val Arg Leu Met Lys Arg Lys Thr Gly Glu Ser Leu Leu Ser Ser  
 130 135 140 143  
 TGATATTATT GTTCTCTTCC CCATTCCCAC CTCAGTCCCT AAAGAACATC CTGATTCCCC 607  
 CAGTCTTCAA GCACATGAAT TCAGAATGAA AGGTTTGCCA TGGCTAAGGA ATGTGACTCT 667  
 TTGAAAACCA TGTTAGCATC TGAGGAACTT TTTTAACTT TGTTTTAGGG ACTTTTTTTT 727  
 CCTTAGGTAA GTAATGATTT ATAACTCCT TTTTTTTTTT TTGACTATAG TCGGTTGCAT 787  
 GGTTACTTTA AGCGTGGAAT CAAATGGAGT GGCATTTAGT TCAGGCGGCT TGTTCCTTGC 847  
 CATGGCAAAG TATCAAGAAG ATCCCAAGT CAAGTCACAT TTGTAAAGCT GCTTCCCAAT 907  
 TGGCTTTGTC ACGCAGTGTT GAAGCAGTGG GAGAGAGATT CACCTGTTAT AAAGGAACTG 967  
 ACTAACACAA GTATCCCGTC TATATCTGAA TGCTGTCTCT AGGTGTAAGC CGTGGTTTCG 1027  
 CCTTCGTGGA GTTTTATCAC TTGCAAGATG CTACCAGCTG GATGGAAGCC AATCAGGTTG 1087  
 CTTCACTCAC CAAGTCTAGA TATTCATGAA AATGGAACAA GTCTGTACAA TTTTAAAAAA 1147  
 AGGTTGAAGG AGTGGTTTGT TCCAAAGGAG TGACTTTTTT TTAACAAAAA AAGCTTTGTA 1207  
 TATATTAATA TTGATGTTAC TAGAATAAGT ACAGTACCAA GGACTTCATT ATAGAATTTG 1267  
 TTCTGCCTTT AAACATGGCT ACCTACCTGG CAGGGCTTTG TTAACACTG AATACCTGTC 1327  
 TGGTAATCAC TAAAACATCT TAATGTTTCC CTTTTTCTA GTTTGTTATA TTCCTATTAT 1387  
 GTCCATTGAG AGTAAGCTTA GTATATCAAA CTCTCCATTT GACAGTGAAG AGAACATAGT 1447  
 GAAAGTCTGT GCGGCATTT TTATAAGTAA TTCCTTATTT CTGCCTGAAG ACCACAAAGC 1507  
 CTCCTGGAGG CGTAACTGCT CAGACCGGTC TTCAGGGAAT ATTTAAGGAC TTAGTGGAAT 1567



TTATGAACAA TAAGTCTGAT GAGATTAGCC TGGGAGTGGT GTCCTGCAGC TGTCTAATCT 1627  
 AGTTAGAGTG GCATTAACAT TCTAATCTCC TTGAGAATGC CTTTTATAGT CTGTTCAAAG 1687  
 CAAGTCATTG ATGGTTCTTC GAGGTAGTGT TAACTGAAGT GTTCTTCAGT TTGTCAAGAT 1747  
 AATGTTTCAGT GCTTGGCACT TAAATAACAT TTTTGTGCAAG AACTCCAAGG CACATTATTG 1807  
 AATGCCTTTA ACCAAGTGCA TTCTGGGAAG TTTGCTTGAC TCATTATCTT GCTTTTCTGC 1867  
 AGCATTCTGT GATTTGAGTC ATCCATGAAT CCATGAATAA AAGTTACATT CTTTGATTGG 1927  
 TAATATTGCC ATTTATAACA AGACTCACTA ATGAGGGTAT CACTTTGACT GACTGATTTG 1987  
 TTAAAGTTTT TAAGCCTCTC ATTTTCCTAA CCCAGAAATC ACAGCCTGAT TTTATTAAAA 2047  
 GTAGAGCTTC ATTCATTTCA TACCATAGAT ACCATCCTAG TAAATCCAGA ACATATACAA 2107  
 GGTTCATGTG AGTCTGCTTT CTTGACATGA TAGCATTGTT TGATGCAGTG GATATGTCAG 2167  
 AATGACTAAC CTAGGAGTTT AAAACTCCTA AGAAACTAAA ACCTGTAAGA CATTTAAAAG 2227  
 TCTCCACAAT TTAAATGTAT ACAAAGCTAT GTTACTGTGT AACACATTAC AGTTCAAATT 2287  
 CACTCCAGAA ATAAAAGGCC AGTAGGATTA GGGACTCACT GGTAGTTTGG AGTCTCCCAG 2347  
 CACACATCCC TCCTAGTGGG ATGATCTATT CACATATCTC CCAGCTTTTT TATTTTTGCT 2407  
 TCTGTATATC ACAGTGAGTG GATGGCCCTT CAGCTTTTTT TCTCCTGGCC AGACATGCAG 2467  
 TCTTGCCCTT AGATATCGCA GAGACAAAAT TCACAGCATG TCTTAAATCT TCCAGGATTT 2527  
 GCAAGAACCA AATTGCTCAA CAGTATGTAT GTTTAGAGGG GTTAGACTCC TTTTAAAAAT 2587  
 CTGGATATCT AACCACCTAC TTAAATCTGT TTGATAGTGT CAAACCACCC CCACCCTTGA 2647  
 TCYTCCCACC CCC 2660

【0067】

配列番号：2

配列の長さ：155

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

CACTTATAAA ATGTTAGGGC TTAATATTAT TCATAGATCG AGGATAGTTT CATTCTTAGT 60  
CGCCTCCTTA GTCACCTCTC CTATACCAAT CTGAGACCAT TTTACAATTT AGAAAAGACA 120  
AATAACTGGT TGGGTACTT GATAGTATAA TAACC 155

【0068】

配列番号：3

配列の長さ：305

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

TCATGAAGTG AAGCCAACTG TTTAGACTAG AATGTTATGA GATTAAACCC ACNNNNNTT 60  
ATTCATAGAC ATAAACCCTC ATTTTAATTA GTGGATCTGG ATTTTGTCA TATGTGGAAT 120  
CATAATTTAA ACAAATCAA CTAAGATGAT CCAAGTTCCA CACAACTGCA CTTCAATATT 180  
CAAGTCGGTG TGAAGATGCC TGACTACTGC GTCACAAGAT TCTGAGCTGT CGTAAAAAGC 240  
CTGGCTCGTG GTTCTATTT ATAGTGACA CATGTTGGT TATAATCACA AACCTGGAAC 300  
TCTGT 305

【0069】

配列番号：4

配列の長さ：278

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

GAAGGAGAAT ATGAAGAGGT TAGAAAAGNT CNGGNTTCTG TTGGTGAAAT GAAGGATGAA 60  
GGGGAAGAGA CATTAAATTA TCCTGATACT ACCATTGACT TGTCTCACCT TCAACCCCAA 120  
AGGTCCATCC AGAAATTGGC TTCAAAAGAG GAATCTTCTA ATTCTAGTGA CAGTAAATCA 180  
CAGAGCCGGA GACATTTGTC AGCCAAGGAA AGAAGGGAAA TGAAAAAGAA AAAACTTCCA 240  
AGTGACTCAG GAGATTTAGA AGCGTTAGAG GGAAAGGA 278

【0070】

配列番号：5

配列の長さ：135

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

TTCTGACAAT GAGTAAGAAG AAAGAGGGTC TTGCCCTTTG GTTATTAAGA TTTATCATAG 60  
AGCAATAATA ASTAAATCGG TGTATACCA GCACAGAGAT TAGACAAATA AACCAAGGGA 120  
CTGGACTAAA TAAGC 135

【0071】

配列番号：6

配列の長さ：197

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

ATGGTACCCA GTTTCAAATT AACATGGTTA TTTTACTTGT GTTCCCAAAT TTAACATTAG 60  
GGAATTTTTG GTTGTGGGTC TGTTATCACT AGAAAAATAT ATATATTGGT GCTGAAGATA 120  
ATTTTGAGAT AATTAGACAA GACAGTTTAG CATTTACAAG AACAAGTTTG GCAGTTGAAG 180  
AATCTATTTA TATGACT 197

【0072】

配列番号：7

配列の長さ：137

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

CCACCGCACC TGGCTGATGC TTTTCTATCT GACTTCTTTC AGAGGACCCT GAAAGACACT 60  
AAGTGGAATC TTTCTTGAA GTCTTCCAAG CTAAAACAAT TCTCTGAAA GATCACCTCT 120  
GTTCAGTCCT GGTCTCT 137

【0073】

配列番号：8

配列の長さ：274

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
CGTTTACAGA TTCTCTTGGC GCTGGCGGTG GAACTACAAA GGGATCGGTG CCTATATCAC 60
AATACCAAAC TTGATAATAA TCTAGATTCT GTGTYTCTGC TTATAGACCA TGTTTGTAGT 120
AGGTAAGAGG AAAACTTCCT ATATTCTGAA ACAGCCTAAC ATTTTACAAA ATTTTAGTTT 180
TCTTTTTTAG AGTCTTATCC TGTAGCTATA TAACAGTTCA TGTCTGATTT AGCATTGTGTT 240
CACGAGTAAA GCTGGAAC TAAGAAATTGA AAAT 274
```

【0074】

配列番号：9

配列の長さ：171

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
GATTAGGTGA CCTTCCTTGA ARAGCCACGG GTTCCCATA TCGAAATGCT ATTCATTACC 60
CGAGTCACCT ANGTTCTTAC AAAGGAAGCG AGAAAAATTGC TTTTGTGGG CCATGCCCCT 120
TTTGCANAGG TTCCTAAGTA TAGTCGCCAN AATTTTTTTA ATGGCCTAAA G 171
```

【0075】

配列番号：10

配列の長さ：161

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
AGGGGCGCTT GTTCTGCTCT CAGCAGATTG GTTACACGCG TCAGGTGGTG GCGATGACTT 60
AATTCCTAGC CCAAGAAGAA TATAATGTTA AAACCTGGTTA TGTAATTTTT GTGCCTCTCC 120
TTTTTAATGC AGTATTTAGT TCAGATGTTG GCGATTTTTC A 161
```

【0076】

配列番号：11

配列の長さ：323

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
TATAAGGWGG GAACCTTACT ATCTCTAATG ACCTTACTGA TGCTGACTTT AATACTCTGT 60
GAAGGTTAGA GTTCAGTGAA TGTTACCTAG AAACAGCCCC GGCTGTGGAA TACTTTATTC 120
TTAGCCCTAT ATTTGGGGTT TGGATGTCCA CTGTGCTGGT TCCCAGAGAT AGTAAGGGGA 180
TGAGAGTATT GGTACATCT CCTGACCCAC ATACTTAAGA TCCAGATGAA CAAGACAGTT 240
TTCACCTCTG CTTGGTAGAA CCTATTTGYK SHAGGAAACA GYTCTAAAG AATGGTTCTA 300
GCCAGACCCT GTCGYTACCA GAA 323
```

【0077】

配列番号：12

配列の長さ：138

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

AGTATGACAA ATAGTTTCTG CCTGATTGGT GAGATTTGGG ATGGGCCCCC ACTTTGTTTC 60  
TCTTTCTGCA TAAAAATTTC AACATTTTTC CAAAATTTTC AAAAACTTCT CCTCAGTCTG 120  
TACATCTTTG TTAATCAG 138

【0078】

配列番号：13

配列の長さ：244

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

TACTCTTCAA CCATGATTTT TCTCTGATGG CCTGTGTGAA CAGATTAATG GTGTCCATCT 60  
AATTCCTTCC CCACTGGGGG AAAGCAAATC ATCAGGCCCA TTGCAAAAAC TGCTCTTGGT 120  
TGAGCTTCCT GCCTTAAATC ATACCCACAG TGAATGGCGT CCCTTTATCA CCGCTAATGA 180  
CTCTGACATC TCTCTCCACT CACATGTGAG CCTCCTCAGC TCTCGANAAA CAAGTCNGTC 240  
TCGG 244

【0079】

配列番号：14

配列の長さ：135

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

TGATCCCCAC AATTTCTTGT GATTGGTGAG GAACTATAAA TGACTCCCAT CCAAGCTTAT 60  
ACCAGAAAAA AGGAGCACAT TTTCTACAAA TTATATCATT TTTAATCCAT TACCACATTA 120  
TTTTAGGGGA ACTAC 135

【0080】

配列番号：15

配列の長さ：258

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

TCTCAGAAAA CTCCAGATCA AATGAGATGA GTATGGTGNN NAGGGCTGGC AATTAGAGGA 60  
TACTCTCCAA TGGTGATGAA GGGAGATGTC TGGGGGAAAT CCAGCAGGAT GTTGATTTAG 120  
TATGTACACA GTGAGAGGAT ACTTGTAGAG AACCTAGAAT CTTCTCTGAA TGTGACGGGC 180  
CCTCAGAGAT AATTGTTAAC AGATAAGTGG ATGATTAAAT ACACTTCCTC CAGTAGGCTA 240  
GATGTTAAGA CGGAGATC 258

【0081】

配列番号：16



配列の長さ：219

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
CTGAGAGGAG CCATGTATAC AAACCACTTT TTCTAACATG GTCTTTATTA AACTTTGAAT 60
ATAAGTACAC CTGCTCGAAG TGTTTCATCTA TATTATTTAA GAACAAGCAA CTGTAAAACA 120
GTAAATCAC AAAAGGTAAG TTGTTGGAAG ACAACAAAAA AGAATTACTA TATCTGATCC 180
TGCGTGTTTA TTTTAGAATC TGTTAATAGG CCTACAGCT 219
```

【0082】

配列番号：17

配列の長さ：191

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
ACAGTGAGTG TGGCTGAAAC CTAAGCTGAA GGAAGGGAGG AGCAGGCACT GCCATGAGGG 60
GTCCCTGGAC AGAAACTCTT CAGCAGGCCT TGAAGTTTAG TTCAGGGGCT ACATGGAATA 120
CCACTATTTA GCACACAGGT GTGATCTGAG GTGAGGGGACT ACCTTTTCGA TCTTGTTTTT 180
CTCATTTATT T 191
```

【0083】

配列番号：18

配列の長さ：148

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
CTGGAGGTGA AGGGAAGGAA AGAAAGGAAA AACTATCTAC CTGGCAGGAA AAGAGATAAG 60
CTCCCAAGAA CACCAAAGCA GATGATGAGT CTAGCTCTAC CCAGCCTTCC TCCCCACGAA 120
TCCAGATCAT AGTAAGAAAC TCTGGGCT 148
```

【0084】

配列番号：19

配列の長さ：306

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
CCACCACCAG AAATGAACAA AAAGCATTTT ACCTAAAAAT ACACCAGCAA AATGTACTCA 60
GCTTCAATCA CAAATACGAC TGCTTAAAC CGCAGAAATT TCCTCAACAC TCAGCCTTTA 120
TCACTCAGCT GGATTTTTC CTTCAACAAT CACTACTCCA AGCATTGGGG AACACAACCT 180
TTAATCATAC TCCAGTCGTT TCACAATGCA TTCTAATAGC AGCGGGATCA GAACAGTACT 240
GCATTTACTT GCCAACAGAA CAGACAGACC TGAAGTCAAG ACAACTGCAT TCTCTGTGAA 300
```

GTCTGT

306

【0085】

配列番号：20

配列の長さ：357

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
GTAGCATTTT GGCAGAACCA TTGTTAATTA AAGGGACTTY TGGACCGCAA CYTTAATGTA 60
CCAGATTATT GAGCRGCCCA ATGAATGCTT CATTCTCATT GTTTAAGGTG CTGCTTTGAT 120
TTTTTTTTCA ATTCTTTGTA CTATTTTTTA TTTTTTGGAG AGGCACATCC CCAAATTTGG 180
ATGAGGTATT TGTGATAAAA TAATTCATCA ATTTCCACAA TGCAGACAAA AATGTCTGCC 240
CAGAGTGGA AAATAAAACA AGGGGGAGAA GAGTTTGAGT AACGGAGAAG TTCTGTGGAA 300
TCCTAGTGAC AAAAGTTGAG AAACCTACCTT TAAATAAGAC AGTGAGGTAA CAAATGT 357
```

【0086】

配列番号：21

配列の長さ：219

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

TGGAATAGCC AGGAGAATTC TGGAAAAGTA GAATAATGAG GTAGGGCTTC CCTTCGCTAT 60  
TTTGAAGTGC AGATTACACT ATGTAAAACC ATTAGGAACT GGCACGTGAA TAGACAGATC 120  
AATAGTTAAT AGCTGTATTA GCCAGAAAAT GGTGTAAGGA CAACAGGCTA ACTAACCCTG 180  
TCACTTGTTA TGCTAAAATT AAGTCTAGAT AGAGTCCTC 219

【0087】

配列番号：22

配列の長さ：251

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

TGAAAGGGGA ATAGAAGCAC AAGAGTCAGT AATCAATAAC AAACAACCTCA AGGTGCTCCT 60  
TCCTTACACT GGTGTTCCCC AAAGTGAGGT GAATTGCCAG CCACTGGGAG TCAGGGCCAG 120  
TTACATAAGA CATTCTCGGT AAGCCCCCTT TGGGTATCCC AAATAAGGAC TGGGGTGGGT 180  
TTATGTGTAG TCCATTATTA ACAACTAAAC GAACAAACCT AGTGAATTGC AATAAATTCA 240  
CACCAACAGA A 251

【0088】

配列番号：23

配列の長さ：233

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

GTTGAAAGAG TCCTTGAAG GCTTTTAGAC CAAACCCCTC TGCATGCTCA ARCCTTGGGT 60  
ACAGGATTTC TAAGAAGTGG AACAGTCTCC AGGGGTGTGG ARCTCATCGC TCAAGGCAGG 120  
TTATCTTATC TGAATAATTT TGTCTGTTGA CTATTGGGAT AGTTCTCCTT CAGATGAGCT 180  
GAAATTTTCT CCATAGCTTC CTCTATTA AAA CCAATTCCA CTTCTCAGGG TCA 233

【0089】

配列番号：24

配列の長さ：176

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

CAAAAGCGCT GAAGTTAAGC ATTAATACGC CAGATTCATG ATTTATGATC AGTATCCAAA 60  
ACTCCAATA CAAACAATGC AAAGTAGTGC TCCTCAGTAT TATTTTGGCA ATTGTTAGTA 120  
ATGTTAAGCA TCAAGGAAAA TAAACACAT CATTGCACAT TACAGCCGCA AAAAAC 176

【0090】

配列番号：25

配列の長さ：241

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
AGAGAGTAAA GCAAGCTATT TTGACAGCAA CCTAATAACA GCTGTCTTCT TCCACTTCTT 60
GGCTAACTCA TCCCCCAGAT AGCCTTCTTT TCTCTTATCA ATTCCCTGTT GCAACAATAA 120
TAAATGCCAC ACCTGATGGA GTCATTAGGC ACTTTCCTAG TGACAAGTGC CTAGGACAGA 180
GGAGAAAACA AAGAAACACT GACAACCACT GAAAACTGAC ATATCAGGCC AGGCATGTCA 240
C 241
```

【0091】

配列番号：26

配列の長さ：217

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
GCTGGAGAGG TGGTGATGTT GCTGAATAAT TGCTTTTAA AGCTGGAGGG GACTTCCAAG 60
AGTCTCTCAT TTAAGAARAA AAATTAAAGA CATAATTGGT AACGGTTTTG ACTGCTGCAG 120
AGGCAACACT TTGCTCACAA TCCTACAGAT CTAATTACAC TGTAACACTACA ATTTTCCTGA 180
AGACATAGAA GAAAAATCAA TTGTTCTAAT CCATATG 217
```

【0092】

配列番号：27

配列の長さ：233

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

AATCTTAGCA TAATGCTTCC TGGGAAATTC TGAAATTGAT TCCATTTCTG CCGTTACAAA 60  
CACACACGAA GTTCCTAGTT CACTGGGACT TCCTGATTG TTCTTTTAGC TTGCTCCTTC 120  
TCACCTAGAA GCTCTGTTTA TTTCTGAGCA ACCCTGGGGC TTGTCTCATA GGACAGGATT 180  
TATTTATCTC ATCAAGGCTG AGTGTGCCTT AGGAAGTCAT AAACATAAAA AGA 233

【0093】

配列番号：28

配列の長さ：228

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

TATAGACAGG GTAGGGACGA TTAGCCCCTC GACAACTTTT CACAAATATA CACACGTTTA 60  
ACTACCTCTC AGGTCATGAT AAAGACCGGC CGGGCAGAAA CACTGTAATC CCAGCTACTC 120  
GGGAGCCTGA GGCATGAGAA TCACTTGAAC CTGGGAGGTG GAGGTTGCCA TGAGCCGAGA 180  
TCACGCCATT GCACTACAGC CTTGGCGACA AGAGTGAAAC TCCATCTG 228

【0094】

配列番号：29

配列の長さ：298

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
GCTTATGATT ACAAACATCC CTCATATGAA AATCTCAGCA TTNCTGGCT GCTGCCTTCA 60
ATCGCTTTTT CTGAAATAGG TATCCCTTGA TGTCGACTAT TTGATTCAG CCAGTCGTTT 120
CTCTCTGGCA GTGCTCCCTG CAAATGTGTC CTTTCAAGAA AACAAAACCT GCAAGTGGCT 180
TGTAATGTAC CATGACCTTA TCATGTGAAG GACAAATGGC TCTTGTGCTT ATTAGATAGC 240
AGATGAACTG ATGAACTGAA TTCTTGGTCT GAAGCTTTGA TAAGGTCAGA TGTCTTTG 298
```

【0095】

配列番号：30

配列の長さ：291

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
ACTTCGAAGG GAAAAAGAGG AAGGAAAAGG ACTGTTAATA AAATAACAAA GGCAGCAATC 60
AGAATGAACC AGAGCCAGGA CAGCGTAAAG GCTAGGTTCA CAGTGAGATG AAAGAACCTG 120
AAAACAAGTT TAAAACTCAA AAGAGGATTA TTCTCAAGTT ATACTACAGT GAAAAACAT 180
GGAAAAACAC AAAAAGGACA GGCAATAAGG CACAGGCATA CATACAAGGC AAATTGTAAC 240
ACAATATTTA CTTGCAAAAAG AGCCACAGA GACATGTCAA TGAAGTCATA G 291
```

【0096】

配列番号：31

配列の長さ：869



配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```
CGCGTCCGGT GCCTGGCTGC AGTAGCAGCG GCATCTCCCT TGCACAGTTC TCCTCCTCGG 60
CCTGCCCAAG AGTCCACCAG GCCATGGACG CAGTGGCTGT GTATCATGGC AAAATCAGCA 120
GGGAAACCGG CGAGAAGCTC CTGCTTGCCA CTGGGCTGGA TGGCAGCTAT TTGCTGAGGG 180
ACAGCGAGAG CGTGCCAGGC GTGTACTGCC TATGTGTGCT GTATCACGGT TACATTTATA 240
CATACCGAGT GTCCAGACA GAAACAGGTT CTTGGAGTGC TGAGACAGCA CCTGGGGTAC 300
ATAAAAGATA TTTCCGAAA ATAAAAAATC TCATTTTCAGC ATTTCAGAAG CCAGATCAAG 360
GCATTGTAAT ACCTCTGCAG TATCCAGTTG AGAAGAAGTC CTCAGCTAGA AGTACACAAG 420
GTACTACAGG GATAAGAGAA GATCCTGATG TCTGCCTGAA AGCCCCATGA AGAAAAATAA 480
AACACCTTGT ACTTTATTTT CTATAATTTA AATATATGCT AAGTCTTATA TATTGTAGAT 540
AATACAGTTC GGTGAGCTAC AAATGCATTT CTAAAGCCAT TGTAGTCCTG TAATGGAAGC 600
ATCTAGCATG TCGTCAAAGC TGAAATGGAC TTTTGTACAT AGTGAGGAGC TTTGAAACGA 660
GGATTGGGAA AAAGTAATTC CGTAGGTTAT TTTTCAGTTAT TATATTTACA AATGGGAAAC 720
AAAAGGATAA TGAATACTTT ATAAAGGAWT AATGTCAATT CTTGCCAAAT ATAAATAAAA 780
ATAATCCTCA GTTTTTGTGA AAAGCTCCAT TTTTAGTGAA ATATATTTTA TAGCTACTAA 840
TTTTAAAATG TCTGCTGATG TATGTGGAA 869
```

【0097】

配列番号：32

配列の長さ：143

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質

起源

生物名：ヒト

組織の種類：白血球

配列

```

Met Gly Ser Asp Lys Arg Val Ser Arg Thr Glu Arg Ser Gly Arg Tyr
 1           5           10           15
Gly Ser Ile Ile Asp Arg Asp Asp Arg Asp Glu Arg Glu Ser Arg Ser
      20           25           30
Arg Arg Arg Asp Ser Asp Tyr Lys Arg Ser Ser Asp Asp Arg Arg Gly
      35           40           45
Asp Arg Tyr Asp Asp Tyr Arg Asp Tyr Asp Ser Pro Glu Arg Glu Arg
      50           55           60
Glu Arg Arg Asn Ser Asp Arg Ser Glu Asp Gly Tyr His Ser Asp Gly
      65           70           75           80
Asp Tyr Gly Glu His Asp Tyr Arg His Asp Ile Ser Asp Glu Arg Glu
      85           90           95
Ser Lys Thr Ile Met Leu Arg Gly Leu Pro Ile Thr Ile Thr Glu Ser
      100           105           110
Asp Ile Arg Glu Met Met Glu Ser Phe Glu Gly Pro Gln Pro Ala Asp
      115           120           125
Val Arg Leu Met Lys Arg Lys Thr Gly Glu Ser Leu Leu Ser Ser
      130           135           140           143

```

【0098】

配列番号：33

配列の長さ：26

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GGGCTTAATA TTATTCATAG ATCGAG

【0099】

配列番号：34

配列の長さ：26

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTTATTATAC TATCAAGTAA CCCAAC

【0100】

配列番号：35

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTGGATCTGG ATTTTGTCA TATGT

【0101】

配列番号：36

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTTTGTGATT ATAACCCAAC ATGTG

【0102】

配列番号：37

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAAGGGGAAG AGACATTAAA TTATC

【0103】

配列番号：38

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCTTCTAAAT CTCCTGAGTC ACTT

【0104】

配列番号：39

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GACAATGAGT AAGAAGAAAAG AGGG

【0105】

配列番号：40

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTCCAGTCCC TTGGTTTATT TGTC

【0106】

配列番号：41

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GGTACCCAGT TTCAAATTAA CATGG

【0107】

配列番号：42

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GATTCTTCAA CTGCCAAACT TGTC

【0108】

配列番号：43

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCTGATGCTT TTCTATCTGA CTTC

【0109】

配列番号：44

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GACCAGGACT GAACAGAGGT GA

【0110】

配列番号：45

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCTTATAGAC CATGTTTGTA GTAGG

0 配列番号：46

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTGAACAAAT GCTAAATCAG ACATG

【0111】

配列番号：47

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCCACGGGTT TCCCATATCG AA

【0112】

配列番号：48

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GACTATACTT AGGAACCTCT GCAA

【0113】

配列番号：49

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTTCTGCTCT CAGCAGATTG GTTA

【0114】

配列番号：50

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCCAACATCT GAACTAAATA CTGC

【0115】

配列番号：51

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTTTCAGTGAA TGTTACCTAG AAACA

【0116】

配列番号：52

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GGAGTGAAAA CTGTCTTGTT CATC

【0117】



配列番号：53

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTATGACAAA TAGTTTCTGC CTGAT

【0118】

配列番号：54

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GATTAACAAA GATGTACAGA CTGAG

【0119】

配列番号：55

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAGACAGCAT TCAGATATAG ACGG

【0120】

配列番号：56

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCGTGGAATC AAATGGAGTG GC

【0121】

配列番号：57

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GATGGCCTGT GTGAACAGAT TAAT

【0122】

配列番号：58

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAGAGAGATG TCAGAGTCAT TAGC

【0123】

配列番号：59

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GATCCCCACA ATTTCTTGTG ATTG

【0124】

配列番号：60

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTTCCCCTAA AATAATGTGG TAATG

【0125】

配列番号：61

配列の長さ：23

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAGGATACTC TCCAATGGTG ATG

【0126】

配列番号：62

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTCTTAACAT CTAGCCTACT GGAG

【0127】

配列番号：63

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAGAGGAGCC ATGTATACAA ACCA

【0128】

配列番号：64

配列の長さ：26

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCACGCAGGA TCAGATATAG TAATTC

【0129】

配列番号：65

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCTGAAACCT AAGCTGAAGGAAGG

【0130】

配列番号：66

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTCCCTCACC TCAGATCACA CC

【0131】

配列番号：67

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCTATCTACC TGGCAGGAAA AGAG

【0132】

配列番号：68

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAGTTTCTTA CTATGATCTG GATTC

【0133】

配列番号：69

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCAAAATGTA CTCAGCTTCA ATCAC

【0134】

配列番号：70

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTAAATGCAG TACTGTTCTG ATCC

【0135】

配列番号：71

配列の長さ：26

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAATGCTTCA TTCTCATTGT TTAAGG

【0136】

配列番号：72

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTCACTAGGA TTCCACAGAA CTTC

【0137】

配列番号：73

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAGGTAGGGC TTCCCTTCGC TA

【0138】

配列番号：74

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCATAACAAG TGACAGGGTT AGTTA

【0139】

配列番号：75

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GGTGCTCCTT CCTTACTG GT

【0140】

配列番号：76

配列の長さ：23

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GACTACACAT AAACCCACCC CAG

【0141】

配列番号：77

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GGGTACAGGA TTTCTAAGAA GTGG

【0142】

配列番号：78

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列



GGAGAAAATT TCAGCTCATC TGAAG

【0143】

配列番号：79

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCTGAAGTTA AGCATTAAATA CGCC

【0144】

配列番号：80

配列の長さ：23

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GCGGCTGTAA TGTGCAATGA TGT

【0145】

配列番号：81

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GACAGCAACC TAATAACAGC TGTC

【0146】

配列番号 : 82

配列の長さ : 22

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸、合成DNA

配列

GTCCTAGGCA CTTGTCATA GG

【0147】

配列番号 : 83

配列の長さ : 22

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸、合成DNA

配列

GAGGGGACTT CCAAGAGTCT CT

【0148】

配列番号 : 84

配列の長さ : 25

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸、合成DNA

配列

GTCTTCAGGA AAATTGTAGT TACAG

【0149】

配列番号 : 85

配列の長さ : 24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTTACAAACA CACACGAAGT TCCT

【0150】

配列番号：86

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GACTTCCTAA GGCACACTCA GC

【0151】

配列番号：87

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTTTAACTAC CTCTCAGGTC ATGA

【0152】

配列番号：88

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GTCGCCAAGG CTGTAGTGCA AT

【0153】

配列番号：89

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GAAATAGGTA TCCCTTGATG TCGA

【0154】

配列番号：90

配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸、合成DNA

配列

GACCAAGAAT TCAGTTCATC AGTT

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 IgA腎症の疾患原因の解明、治療あるいは患者に負担のかからない診断を行うため、IgA腎症に関与する新規DNAおよびその取得方法を提供する。

【解決手段】 IgA腎症患者白血球より、ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いた新規遺伝子の取得方法、および本発明DNAの塩基配列に基づくオリゴヌクレオチドを含む、IgA腎症診断薬および治療薬に関する。

【選択図】 なし

【書類名】

職権訂正データ

【訂正書類】

特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

申請人

【識別番号】

000001029

【住所又は居所】

東京都千代田区大手町1丁目6番1号

【氏名又は名称】

協和醗酵工業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000001029]

1. 変更年月日 1990年 8月 6日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都千代田区大手町1丁目6番1号  
氏 名 協和醗酵工業株式会社